FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1959

THÈSE

N° 497

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ÉTAT

PAR

Gérard Eric DROPSY

né le 12 Août 1927 à Crugny (Marne)

Présentée et soutenue publiquement le : 9 Juin 1959

ETUDE DES ACCIDENTS TRANSFUSIONNELS DUS A LA CONTAMINATION DES SANGS CONSERVES.

Essai d'interprétation pathogénique
et de prophylaxie.

Président : Mr. FASQUELLE, Professeur.

ÉDITIONS A. G. E. M. P. — 8, RUE DANTE - PARIS-Ve

1959

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550417_0015

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1959

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ÉTAT

PAR

Gérard Eric DROPSY

né le 12 Août 1927 à Crugny (Marne)

Présentée et soutenue publiquement le : 9 Juin 1959

ETUDE DES ACCIDENTS TRANSFUSIONNELS DUS A LA CONTAMINATION DES SANGS CONSERVES.

Essai d'interprétation pathogénique
et de prophylaxie.

Président : Mr. FASQUELLE, Professeur.

ÉDITIONS A. G. E. M. P. — 8, RUE DANTE · PARIS-Ve

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

PROFESSEURS

18-1-60

18-1-60

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Aubin (A.), Bénard (H.), Brocq (P.), Bulliard (H.), Cadenat (F.), Chabrol (E.), Champy (C.), Chevallier (P.), Debré (R.), Donzelot (E.), Gastinel (P.), Guillain (G.), Halphen (E.), Harvier (P.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Lantuejoul (P.), Laroche (G.), Laubry (C.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Loeper (M.), Marion (G.), Mathieu (P.), Mocquot (P.), Mondor (H.), Monod (R.), Moreau (R.), Olivier (E.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis, Richet (C.), Strohl (A.), Tanon (L.).

DOYEN . . . . . **Léon BINET.**
Membre de l'Institut

ASSESSEUR. . . . . **Jean VERNE.**

I. — PROFESSEURS

		MM.
Anatomie		CORDIER (G.)
» (Prof^r à titre personnel)		DELMAS (A.)
Anatomie pathologique		DELARUE (J.)
Anesthésiologie		BAUMANN (J.)
Bactériologie		FASQUELLE (R.)
Biochimie médicale		JAYLE (M. F.)
» » (Prof^r à titre personnel)		SCHAPIRA (G.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports		CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie médicale		FAUVERT (R.)
» » (Prof^r à titre personnel)		BOURLIÈRE (F.)
Cancérologie médicale et sociale		BERNARD (J.)
Clinique carcinologique chirurgicale (Inst. G. Roussy)		REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)		MOUQUIN (M.)
Cliniques chirurgicales	Beaujon	SICARD (A.)
	Cochin	QUÉNU (J.)
	Hôtel-Dieu	PATEL (J.)
	Saint-Antoine	GOSSET (J.)
	Salpêtrière	MOULONGUET (P.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)		FÈVRE (M.)
Clinique chirurgicale orthopédique et réparatrice (Cochin)		MERLE D'AUBIGNÉ (R.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)		GAUDART-D'ALLAINES (F. de)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laënnec)		MATHEY (J.)
Clinique endocrinologique (Pitié)		DECOURT (J.)
Clinique de génétique médicale (Enfants-Malades)		LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)		FUNCK-BRENTANO (P.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (St-Louis)		DEGOS (R.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)		CATHALA (J.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)		MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Ste-Anne)		DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)		HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)		MARCHAL (G.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)		ALAJOUANINE (T.)
Cliniques médicales	Boucicaut	LENÈGRE (J.)
	Broussais	SOULIÉ (P.)
	Cochin	JUSTIN-BESANÇON (L.)
	Hôtel-Dieu	BARIÉTY (M.)
	Pitié	DREYFUS (G.)
	St-Antoine	KOURILSKY (R.)
Clinique médicale d'hydrologie thérapeutique et climatologie (Bichat)		DEBRAY (C.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)		GENNES (L. de)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hotel-Dieu)		DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)		DAVID (M.)
Cliniques obstétricales	Baudelocque	LACOMME (M.)
	Foch (Suresnes)	MERGER (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)		VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)		RENARD (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)		AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (St-Vincent-de-Paul)		LELONG (M.)
Clinique de pédiatrie Sociale (Enfants-Malades)		MARIE (J.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laënnec)		BERNARD (E.)
Clinique psychiatrique infantile (Salpêtrière)		MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)		COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Pitié)		DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)		SÉNÈQUE (J.)
Clinique thérapeutique médicale (St-Antoine)		LEMAIRE (A.)
Clinique urologique (Cochin)		FEY (B.)
Embryologie		GIROUD (A.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie (Lariboisière)		SÈZE (S. de)
Histologie		VERNE (J.)

	MM.
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	TURPIN (R.)
Hygiène et médecine préventive	JOANNON (P.)
— — (Profr à titre personnel)	DEPARIS (M.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	PIÉDELIÈVRE (R.)
Parasitologie	GALLIARD (H.)
Pathologie chirurgicale	COUVELAIRE (R.)
Pathologie exotique	LAVIER (G.)
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	MILLIEZ (P.)
Pathologie et thérapeutique générales	GARCIN (R.)
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
» (Profr à titre personnel)	LÉVY (Mlle J.)
Physiologie	BINET (L.)
» (Profr à titre personnel)	BARGETON (D.)
Physique médicale	DOGNON (A.)
» » (Profr à titre personnel)	DJOURNO (A.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	LÉGER (L.)
Thérapeutique	BROUET (G.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS AGRÉGÉS ET MAITRES DE CONFÉRENCES - AGRÉGÉS

	MM.
Anatomie	CABROL (C.) COUINAUD (C.) OLIVIER (G.)
Anatomie pathologique	GAUTHIER-VILLARS (Mlle P.) pr. s. ch. BUSSER (F.) GOUYGOU (Ch.) ORCEL (L.) PAILLAS (J.)
Anesthésiologie	VOURC'H (G.)
Bactériologie	NÉVOT (A.) pr. s. ch. BARBIER (P.) CHRISTOL (D.) TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	DESGREZ (P.), pr. s. ch. POLONOSKI (J.), m. conf.
Biologie appliquée à l'Éducation Physique et aux Sports	PLAS (F.)
Cancérologie	DENOIX (P.) MATHE (G.)
Dermato-Syphiligraphie	DUPERRAT (B.)
Electro-Radiologie	LEDOUX-LEBARD (G.)
Embryologie	TUCHMANN-DUPLESSIS (H.), pr. s. ch.
Hématologie	BILSKI-PASQUIER (G.) DAUSSET (J.)
Histologie	COUJARD (R.) pr. s. ch. MAROIS (M.) RACADOT (J.)
Hydrologie	CORNET (A).
Hygiène	BOYER (J.), pr. s. ch. CORRE-HURST (Mme L.)
Maladies infectieuses	BASTIN (R.) DUPONT (V.)
Médecine légale	DEROBERT (L.), pr. s. ch. HADENGUE (A.) FOURNIER (E.) GUENIOT (M.)
Médecine du travail	ALBAHARY (C.)
Neurologie	LHERMITTE (F.)
Obstétrique	GRANJON (A.) HERVET (E.) LE LORIER (G.) MORIN (P.) MUSSET (R.) ROBEY (M.) THOYER-ROZAT (J.)
Ophtalmologie	BERGEAT (P.) SARAUX (H.)

	MM.
Orthopédie	JUDET (R.) RAMADIER (J.)
Oto-rhino-Laryngologie	DEBAIN (J.)
Parasitologie	BRUMPT (L.C.), pr. s. ch. CHABAUD (A.)
Pathologie chirurgicale	BARCAT (J.) BINET (J.-P.) CAUCHOIX (J.) CHATELIN (C.-L.) DUBOST (Ch.) DUBOST (Cl.) FAUREL (J.) FLABEAU (F.) GERMAIN (A.) LAURENCE (G.) agr. par. LORTAT-JACOB (J.-L.) LOYGUE (J.) MERCADIER PERROTIN (J.) ROBERT (H.) THOMERET (G.)
Pathologie exotique	SCHNEIDER (J.)
Pathologie expérimentale	CROSNIER (J.) HARTMANN (L.) LŒPER (J.) MAURICE (J.) RICHET (G.)
Pathologie médicale	AUSSANNAIRE (M BOUR (H.) BOUVIER (J.) BOUVRAIN (Y.) BRICAIRE (H.) BRISSAUD (H.) BROCARD (H.) BUGE (A.) CASTAIGNE (P.), m. conf. CATINAT (J.) CONTAMIN (F.) COURY (C.) FREZAL (J.) HOUSSET (E.) LAROCHE (Cl.) LESOBRE (R.) MACREZ (C.) NICK (J.) PORQUEROL (H.) m. conf. ROYER (P.) WOLFROMM (R.)

	MM.
Pédiatrie-Puériculture	JOSEPH (R.) MANDE (R.) MOZZICONACCI (P.) POLONOVSKI (C.) ROSSIER (A.)
Pharmacologie	BOISSIER (J.) LECHAT (P.)
Physiologie	PARROT (J.), pr. s. ch. DEJOURS (P.)
Physique médicale	GOUGEROT (L.), m. conf. pr. s. ch. KELLERSHOHN
Pneumo phtisiologie	KREIS (B.)
Psychiatrie	PICHOT (P.)
Psychiatrie infantile	DUCHÉ (D.)
Rhumatologie	DELBARRE (F.)
Stomatologie	CERNÉA (P.) CHAPUT (Mme A.), m.c. agr GRELLET (M.)
Thérapeutique	CHASSAGNE (P.) LAMOTTE (M.)
Urologie	QUENU (L.)

III. — PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent.

	MM.
Anatomie	DEBEYRE
Clinique chirurgicale	ABOULKER (P.) AMELINE (A), pr. s. ch. HUGUIER (J.) OLIVIER (C.) PADOVANI (P.) POILLEUX (F.) ROUX (M.) VERNE (J.-M.)
Clinique médicale	BOUDIN (G.) CONTE (M.) DOMART (A.) PERRAULT (M.) RAMBERT (P.) THIEFFRY (S.) TURIAF (J.)
Clinique obstétricale	GRASSET (J.) LEPAGE (F.) MAYER (M.) RAVINA (J.)
Clinique ophtalmologique	DESVIGNES (P.) OFFRET (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique	MADURO (R.)
Clinique pédiatrique et puériculture	LAPLANE (R.)
Clinique psychiatrique	BARUK (H.)
Clinique urologique	KUSS (R.)
Médecine légale	GAULTIER

IV. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie	HAUDUROY (P.) Pr. s. ch
Biochimie médicale	ETTORI (J.) Pr. à t. pers.
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) Pr. s. ch.

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Secrétaires	Mme BEURLAND (H.), Mlle CHAINTREUIL (G.), Mlle HURÉ (A.)
Conservateur en Chef	M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateurs	Mlles DUMAITRE (P.), GOICHON (A-M.)
Bibliothécaires	Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlles LAURENT (H.,), LE NOIR (G.), QUIÉVREUX (E.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

Je dédie de travail à :

A mes Parents,

en témoignage de grande affection et de reconnaissance.

A ma Femme.

A Monsieur le Professeur FASQUELLE St-YVES-MENARD

Professeur de Bactériologie à la Faculté de Médecine de Paris.

Qui, après nous avoir initié à la bactériologie, nous a fait le très grand honneur d'accepter la présidence de cette Thèse.

Hommage respectueux.

A Monsieur le Docteur J. BOY

Médecin-biologiste des Hôpitaux
Directeur du Centre de Transfusion Sanguine de Reims.

Dont la bienveillante sollicitude et la compréhension nous guident parmi les difficultés de la Biologie Clinique, et qui nous a inspiré ce travail.

En témoignage de notre profonde reconnaissance, de notre admiration et de notre respectueux dévouement.

A mes Maîtres - Médecins, Chirurgiens et
Spécialistes des Hôpitaux de Reims.

Pour les enseignements et les encouragements
qu'ils m'ont donnés au cours de mes années
d'Externat et d'Internat.

A mes Professeurs de l'Ecole de Médecine de Reims

et de la Faculté de Médecine de Paris

ETUDE DES ACCIDENTS TRANSFUSIONNELS DUS A LA CONTAMINATION DES SANGS CONSERVES.

Essai d'interprétation pathogénique
et de prophylaxie

P L A N

Pages

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I - CLINIQUE 3

Accidents majeurs, clinique et fréquence 3

Accidents mineurs, aspects et hypothèses 7

CHAPITRE II - LES GERMES II

Origine II

Multiplication I3

Nature I6

CHAPITRE III - PATHOGENIE DES ACCIDENTS I9

CHAPITRE IV - PROPHYLAXIE 25

Sang total 25

Plasma congelé 32

CHAPITRE V - THERAPEUTIQUE 33

CONCLUSIONS 35

BIBLIOGRAPHIE I

INTRODUCTION

Le développement de la transfusion sanguine favorisé par l'usage du sang conservé, a pu faire supposer parfois qu'elle ne représentait plus qu'un acte facile, banal, sans danger, une simple injection intra-veineuse.

Sans évoquer les dangers de certaines transfusions, trop facilement ou trop hâtivement prescrites et qui ne sont pas l'objet de ce travail, il arrive encore trop souvent que des accidents graves, sinon mortels, surviennent. Ceux dus aux différentes modalités des incompatibilités sont maintenant bien connus; des contrôles sévères à tous les stades depuis le prélèvement jusqu'à l'injection doivent permettre de les éviter assez facilement et l'exsanguinotransfusion permettra assez souvent aussi d'opposer une thérapeutique efficace.

Bien plus graves encore sont, à notre avis, certaines manifestations cliniques apparaissant après l'injection de sang conservé, dans lesquels des germes apportés à un stade quelconque du prélèvement ou de la conservation, se seraient multipliés.

Tous les degrés existeront ici dans les manifestations cliniques; depuis les plus bénignes jusqu'à la mort rapide, presque foudroyante.

Malgré la gravité extrême de certaines de ces manifestations, ces accidents sont encore assez mal connus particulièrement des cliniciens. Si ce nombreuses publications ont été faites récemment sur ce sujet, les opinions

divergent encore trop souvent quant aux modes de contamination, aux causes et conditions de la prolifération microbienne, sinon quant aux différentes modalités cliniques.

Bien souvent encore des manifestations, que personnellement nous rattacherons volontiers à la multiplication microbienne, ont été décrites sans que cette étiologie ait été suspectée par les auteurs.

A la lumière de quelques observations cliniques et à l'aide de l'expérimentation animale, nous avons tenté de résoudre ces problèmes.

L'observation clinique nous a permis d'émettre certaines hypothèses que nous avons vérifié par l'expérimentation animale.

Mais le but principal de notre travail était essentiellement pratique. Les méthodes actuelles de prélèvement et de conservation des sangs ne permettant pas d'éliminer avec certitude les sangs souillés, ni même de détecter les flacons qui peuvent être à l'origine des accidents les plus graves, il était tentant d'essayer de standardiser les moyens propres à diminuer les risques de souillure et de proposer une méthode simple, facilement reproductible , de détection des proliférations microbiennes.

C'est ce que nous développons dans ce travail, avec l'espoir qu'il apportera aux bénéficiaires de la transfusion, une garantie supplémentaire contre ce qu'il faut appeler le risque transfusionnel.

CHAPITRE I - CLINIQUE

A - LES ACCIDENTS MAJEURS - CLINIQUE & FREQUENCE

Voici un convalescent encore anesthésié dont l'examen hématologique montre une hémoglobine à neuf grammes pour IOO ml.

C'est là un sujet qui va tirer d'une transfusion un bénéfice certain, geste efficace , apparemment bénin.

Voilà un flacon prélevé il y a quelques jours, rien d'anormal à l'aspect, pas de trouble ni d'hémolyse apparente. Les groupes sont compatibles. Rien ne laisse présager les faits qui vont suivre son injection.

Car, hélas après 50-IOO cm3 voici des symptômes graves qui apparaissent, si graves même que c'est la mort qui va suivre rapidement en quelques dizaines de minutes.

La premières réaction, car elle correspond à ce que nous avons appris de plus classique, est de soupçonner une incompatibilité, une erreur à un stade quelconque des manipulations. Les vérifications éliminent rapidement ce fait. La clinique aussi ne concorde pas.

Quelle est donc l'origine de cet accident gravissime ? La réponse va nous être donnée par l'examen d'une goutte au microscope: entre les globules s'agitent quelques éléments microbiens que la culture va encore mieux mettre en évidence.

Mais si ces deux examens avaient été négligés, rien n'aurait permis de retrouver l'étiologie de cette mort.

Ce drame n'est pas hélas un phénomène isolé, rarissime, bien que sa fréquence ne soit pas, par bonheur, très grande.

Nous allons pour commencer ce travail, rapporter les cas cliniques que nous avons personnellement pu connaître et examiner.

OBSERVATION I (I953) :

Il s'agit d'un accident collectif. Le même flacon ayant servi à plusieurs transfusions d'enfants.

Les sujets transfusés étaient âgés de 8, I0 et I2 mois, et présentaient une anémie post-infectieuse; deux étaient convalescents, le 3° conservait un état général précaire. On pratique des transfusions successives à la seringue de I5 à 20 cm3 par enfant.

Les symptômes apparaissent rapidement après la transfusion (le temps, hélas suffisant, d'effectuer les 3 transfusions), et consistent pour les 3 enfants d'abord en un état d'agitation avec gémissements, vomissements importants, jaune d'or, pâleur intense, puis élévation rapide de la température à 39°. L'attitude des enfants évoque l'impression d'une soif intense : se précipitant sur les boissons qu'on leur présente.

Succédant à ces signes, après quelques minutes, la tension artérielle s'effondre, des troubles des rythmes respiratoire: puis cardiaque apparaissent, et deux des enfants meurent rapidement. Le 3° survivra et ne présentera , après quelques jours, aucune séquelle.

OBSERVATION II (I956) : (Mr. S.J. 50 ans), transfusion de 400 cm3 pré-opératoire chez un sujet déficient.

C'est apparemment une heure après la fin de la transfusion que le malade va accuser les premiers troubles importants. En premier lieu une céphalée intense, puis des vomissements; la soif est vive, la température s'élève à 38°5/39°. Rapidement la tension artérielle s'effondre tandis que le malade souffre, se plaignant de douleurs diffuses dans les membres (à type de crampes.)

A signaler qu'il n'y a pas de douleurs osseuses, sternales ou lombaires comme dans un accident d'incompatibilité.

Altération progressive de la conscience, état syncopal et mort rapide une heure après l'apparition des accidents.

OBSERVATION III (1957): Mme F., transfusion post-opératoire après gastrectomie pour cancer.

Les signes sont à peu près semblables à ceux de l'observation précédente. Là aussi on va noter la soif intense, les douleurs musculaires violentes à type de crampes, la céphalée, l'absence de douleurs osseuses, l'effondrement de la tension artérielle, l'évolution rapide vers le coma et la mort malgré la thérapeutique.

OBSERVATION IV (1958) : M. L.M. 57 ans, transfusion de plasma chez un malade en mauvais état général après une deuxième perforation d'un ulcus gastrique. Ce malade avait déjà reçu du sang et du plasma à plusieurs reprises sans incidents.

L'injection ne semble pas très bien supportée, la perfusion est arrêtée à 200 cm3. A ce moment le malade présente des frissons puis des nausées incessantes, se plaint de crampes violentes dans les membres, de diplopie, puis d'amaurose; la tension artérielle s'effondre; on note une tachycardie à 160. Malgré l'installation immédiate d'une thérapeutique symptomatique, on se trouve très vite en présence d'un malade en plein collapsus avec troubles des rythmes respiratoire et cardiaque; subcomateux avec crises d'agitation.

Enseignés par les accidents précédents; la thérapeutique a surtout visé à remonter la tension artérielle: on injecte au malade de la néosynéphrine en perfusion dans le sérum glucosé associé aux hormones surrénales, et on associe une thérapeutique tonicardiaque majeure. L'évolution ne sera pas mortelle et le malade s'améliorera très lentement en une douzaine d'heures.

SYNTHESE CLINIQUE

Il faut noter que l'on retrouve constamment au cours de ces accidents un certain nombre de signes cliniques dont le groupement, sans être peut-être pathognomonique est cependant très évocateur :

C'est l'association aux signes classiques très généraux du choc, de certains symptômes assez caractéristiques.

Outre des vomissements précoces assez importants, voir profus, ce sont les manifestations neurologiques qui seront les plus constantes :

- Céphalées, avec agitation, délire,
- Troubles visuels (diplopie, amaurose)
- crampes musculaires, pouvant prendre une intensité particulière et à notre avis assez caractéristique,
- troubles sphinctériens,
- troubles des rythmes cardiaque et respiratoire.

Cliniquement quelques signes doivent permettre de différencier ces accidents de ceux par incompatibilité. Car si la chute tensionnelle, l'agitation, les céphalées, sont communs, les troubles nerveux ne sont cependant pas de règle dans les incompatibilités.

Il faudra bien distinguer en particulier les crampes, signes importants des accidents dus à la contamination, des douleurs lombaires et osseuses, manifestations de l'hémolyse et de la réaction médullaire consécutives à l'injection de sang incompatible.

Il faut insister sur la discordance de la clinique des deux types d'accidents et particulièrement sur l'absence des signes témoins caractéristiques de l'hémolyse, douleurs osseuses en particulier, au cours des troubles succédant à l'injection des sangs contaminés.

Car ceci semble éliminer ou tout au moins diminuer l'importance dans l'étiologie de ces accidents, des phénomènes immunitaires aspécifiques

dus à l'antigène T apparu sur les globules transfusés.

Il semble donc que ces accidents par contamination des sangs peuvent avoir une clinique assez caractéristique et ceci quel que soit le germe en cause.

Ces 4 cas s'échelonnent sur 6 années et pendant cette période plus de I6.000 transfusions ont été pratiquées par le Centre et les Postes qui en dépendent. Le pourcentage est donc relativement très faible.

Si l'on compare leur fréquence à celle des accidents par incompatibilité, il faut cependant constater avec le Professeur Massé (27), que l'on trouve des chiffres voisins.

Il est difficile il est vrai , de recueillir sur ce point des statistiques importantes : le recul n'est pas assez grand et surtout la connaissance de ces accidents est récente. Si les premiers cas semblent avoir été décrits par Whitby en I946 à l'occasion d'accidents mortels dans l'armée anglaise, Borden et Hall en I95I (I3) en publiaient dix cas; mais seules les publications de Braude en I952 (II) ont commencé à diffuser ces notions d'accidents graves par pollution des sangs conservés ainsi que la fréquence des souillures de ces sangs.

Actuellement ilsdevront être soupçonnés au même type que ceux d'incompatibilité chaque fois qu'un malade transfusé aura présenté des troubles graves et relativement précoces au cours de l'injection. L'examen bactériologique doit être aussi systématique que la vérification des groupes.

B - LES ACCIDENTS MINEURS - ASPECTS & HYPOTHESES

Dès ce stade de confrontation clinique et bactériologique, un fait est évident: Si l'on compare le nombre d'accidents décrits, même en supposant que seuls une partie de ceux-ci aient pu être détectés et reconnus, et le nombre de flacons où la culture montre l'existence d'une souillure, la différence de fréquence est telle que rien ne semble pouvoir relier l'un à l'autre.

Rien ne pouvant s'opposer à l'étiologie évoquée pour les accidents graves décrits, il faut donc supposer que la notion de souillure, au sens bactériologique strict du terme, n'est pas suffisante à évoquer, ou plus exactement qu'elle s'étend plus loin que les manifestations cliniques décrites ci-dessus (et il faut s'en féliciter).

Le pourcentages des flacons souillés relevés chez les différents auteurs sont assez variables : Braude (I2) donne 2,24% . Walter et ses collaborateurs (36-37): 6,0I%. Bonnel et Raby (7-8-9) cherchant à standardiser cette recherche, paraissent atteindre des chiffres encore plus élevés. Nous mêmes, trouvons un taux voisin de 2%.

Ces différences sont dues en premier lieu à l'extrême diversité des techniques employées et aussi, il faut le constater, au but poursuivi par leurs auteurs. Nous discuterons plus loin de ces faits.

Mais même en ne considérant que le chiffre de 2% (qui semble nettement un minimum), comment supposer que seuls quelques flacons "privilégiés" vont être nocifs.

Nous aborderons, sur un plan plus biologique, ce problème, dans la troisième partie de ce travail.

Mais déjà au stade clinique actuel, si nous ne relevons que les accidents graves, faut-il admettre la loi du tout ou rien ?

Voici deux flacons où l'on détecte une souillure: l'un va-t-il pouvoir tuer, et l'autre être injecté sans danger, et n'y-at-il que cette alternative ?

Il est hors de doute, et l'expérimentation viendra appuyer notre hypothèse, qu'à côté de ces deux éventualités, d'autres manifestations cliniques devront être rattachées à cette même étiologie.

André, Dreyfus et Salmon (I), dans leur chapitre sur les accidents dus à la transfusion de sangs infectés, in "Incidents et Accidents de la

Transfusion Sanguine" (1956), admettent l'existence d'accidents atténués réduits à une ascension thermique.

Nous allons plus loin que ces auteurs et personnellement c'est à l'étiologie microbienne que nous rattachons principalement non seulement ces poussées thermiques, mais aussi d'autres manifestations mineures qui apparaissent au cours des transfusions : frissons avec malaises, céphalées, hausées et angoisses; réalisant le classique choc transfusionnel; compliqué parfois d'une tendance au collapsus, ou d'une simple chute tensionnelle, voir de phénomènes nerveux plus ou moins intenses et inquiétants.

Tous ces signes pouvant être dissociés réalisant un certain nombre de tableaux cliniques dont le dénominateur commun est leur guérison facile, rapide et presque constamment sans séquelles.

Certains auteurs rattachent déjà une partie de ces manifestations à l'injection de sang contaminé. Mais il nous semble que l'on néglige trop cette étiologie au dépend de l'évocation des classiques et si conciliants "pyrogènes", sinon aux produits de désintégration de certaines fractions sanguines (plaquettes, globules blancs).

Nous n'éliminons certes pas ces étiologies, en particulier l'existence d'une sensibilisation possible aux protéines plasmatiques, ainsi que l'intervention de leuco ou thrombo agglutinines dont l'existence parait solidement démontrée.

Mais puisqu'il faut bien constater la fréquence assez grande des sangs conservés souillés, nous sommes obligés d'admettre que nous avons là une source importante de manifestations cliniques.

Sans nier non plus l'étiologie évoquée par Menini et coll. (7° Congrès International d'Hématologie, rapport n° 200) (26) à l'origine de manifestations post-transfusionnelles: somnolence, montées de température, que ces auteurs attribuent à des phénomènes de défense du système nerveux; ne faut-il pas là aussi suspecter la possibilité d'intervention de germes

(l'expérimentation sur l'animal ne fera que renforcer cette opinion).

Quelle est la fréquance de ces manifestations ? Pinkerton (7° Congrès d'Hématologie) (3I) donne pour les réactions fébriles un chiffre de 4,4%. Bien que relevant systématiquement les signes anormaux au cours des transfusions pratiquées en milieu hospitalier par le Centre de Transfusion Sanguine, le pourcentage déterminé ici n'atteint pas 2% (I,9 environ).

Nous émettons donc l'hypothèse que les pollutions représentent actuellement l'étiologie principale des réactions anormales secondaires à l'injection des sangs conservés, que la clinique de ces manifestations est extrêmement polymorphe; elle ira du simple frisson, de la poussée thermique infraclinique, à l'accident gravissime mortel en peu de temps après une injection minime, en passant par toute la gamme des phénomènes intermédiaires.

Pourquoi ces différences , comment les expliquer, sont-elles le fait d'espèces microbiennes précisées, de manifestations septicémiques, de chocs protéiniques ou toxiniques, et quels sont les arguments expérimentaux ?

Tels sont les problèmes que nous avons à résoudre pour expliquer cette hypothèse.

Une aide efficace pourra être apportée ultérieurement pour identifier ces étiologies, c'est la possibilité pour les Centres de Transfusion de recevoir rapidement en retour tout flacon suspect afin que l'étude bactériologique puisse en être faite dans de bonnes conditions.

CHAPITRE II - LES GERMES

- leur origine
- leur multiplication
- leur nature.

Leur origine

Avant de chercher à résoudre ces problèmes, il nous faut essayer de connaître le responsable (ou plutôt les responsables).

Le sang a été souillé, quand, où, comment ?

L'origine de ces souillures a été parfois facile à mettre en évidence, et c'est le cas pour notre observation n° I; le flacon est ouvert pour prélever une certaine fraction, les précautions bactériologiques semblent avoir été prises, et pourtant après trois jours, une culture s'est développée.

C'est le cas lorsque l'on prélève pour la recherche de compatibilité; c'est aussi celui des culots globulaires lavés ou simplement déplasmatisés, car l'on connait les difficultés assez grandes pour manipuler ceux-ci dans des conditions d'asepsie parfaite.

Mais ces notions sont bien connues, évidentes; l'intégrité des flaçons est respectée de façon presque absolue jusqu'au moment de l'utilisation, et rares sont les cas où l'on peut maintenant retrouver des étiologies à l'origine des contaminations.

Les contrôles répétés doivent permettre d'éliminer et le flacon vide avec son mélange anticoagulant, et le matériel de prélèvement (souvent matériel "perdu", préparé avec du tube plastique, stérilisé, scellé et contrôlé).

Notons au passage l'importance accordée antérieurement aux pyrogènes du mélange anti-coagulant, nous n'insisterons pas sur ce point qui est hors de notre propos.

Un grand responsable semble être le donneur lui-même, et par deux mécanismes :

I) - sa peau d'abord, il est certain que, quelles que soient les précautions prises pour aseptiser le point de prélèvement, il est à peu près impossible de nettoyer "en profondeur" et il est bien démontré que certains germes pourraient se trouver à un millimètre de la surface cutanée. Qui n'a pas eu d'ailleurs la désagréable surprise de souiller un flaçon d'hémoculture, malgré tous les soins apportés au prélèvement .

2) - par apport de germes "en transit". Bactériémies inapparentes, on les dirait presque monomicrobiennes, ou paucimicrobiennes, bactéries ayant franchi la barrière intestinale et véhiculées passivement avant que d'être rapidement éliminées, fixées par le système réticulo-endothélial, sans provoquer jamais aucun trouble.

Cette cause qui semble certaine, quelle est sa fréquence ? Nous l'ignorons, mais nous la supposons importante.

Un autre mécanisme a retenu notre attention :

A la fin du prélèvement, lorsqu'on ôte l'aiguille ayant servi à l'écoulement du sang dans le flacon , celle-ci abandonne dans l'épaisseur du bouchon un "clou" sanglant. Que l'asepsie du bouchon soit défectueuse, ou que ce clou soit en contact avec l'air, il va servir pour une microculture qui va pouvoir ensemencer secondairement le flacon.

La date de contamination

La date de contamination par rapport au prélèvement a pour nous moins d'importance que pour les premiers auteurs, qui, considérant le pouvoir bactéricide du sang, estimaient que seuls les germes introduits après 24-48 heures, c'est-à-dire lorsque cet effet bactéricide est disparu, avaient des chances de se multiplier.

En effet Braude (IO-II) a bien démontré que 50% des sangs n'avaient pas de pouvoir bactériostatique, et que le sang pouvait même représenter un milieu favorable pour certaines bactéries.

Leur multiplication

Il est certain que ce ne sont pas quelques rares unités microbiennes introduites par l'un des mécanismes précédents, qui vont être directement dangereuses; une si faible quantité ne pourrait que rarement être mise en évidence même par la culture dans les conditions où elle est pratiquée.

Il est absolument nécessaire qu'il y ait multiplication de ces germes. Alors seulement pourront apparaître des manifestations cliniques.

Quand se produit cette multiplication ?

Les premiers travaux, et même André; Dreyfus (déjà cités) (1) qui en I936 écrivaient : "De toute manière et quelle que soit la façon dont le sang a été contaminé, la pullulation microbienne n'est possible que si le sang est laissé quelques heures (plus de 6) à une température nettement supérieure à celle de conservation (+ 4°), pour obtenir une prolifération notable.

On relève de même dans les cours, édités par le Centre National de Transfusion Sanguine (23) : Chapitre XXX relatif aux accidents de la transfusion sanguine , les notions suivantes : " Ce développement microbien dans le sang est généralement suffisamment entravé si le flacon de sang est convenablement réfrigéré à 4°, tout au long de sa conservation".

Certains auteurs suggéraient même la possibilité de prolifération se produisant pendant la transfusion, conciliant ainsi le désir d'une souillure tardive et la température soi-disant favorable. Que voilà des germes dont la phase de latence est bien courte et dont la multiplication serait bien active....

James, au 6ème Congrès d'hématologie (I9) mettait bien en évidence l'importance de la culture à 4°, et même son danger, puisque c'est à des microorganismes, se développant à cette température, qu'étaient dus les accidents mortels survenus en Grande Bretagne qu'il rapportait.

Sans éliminer la possibilité d'une culture favorisée par une température plus élevée, et l'usage des sangs longtemps réchauffés ou ayant été abandonnés plusieurs heures en dehors des glacières, (dans une salle d'opération par exemple), est une faute-, il nous apparaît certain que les germes les plus fréquemment isolés se sont développés à 4°.

Toutes nos souches ont été isolées de sang correctement conservés; et les germes retrouvés, dont la densité était parfois grande, n'ont pu se multiplier qu'au cours du séjour plus ou moins prolongé au réfrigérateur.

Cette notion de possibilité de multiplication de certains germes dans du sang conservé à 4° nous semble particulièrement importante. Il est évident :

I) - que cette température de 4° n'offre aucune sécurité quand à l'absence de prolifération microbienne.

2) - que cette température doit opérer parmi les contaminants éventuels, une sélection, en ne permettant que la croissance de certains germes.

Or les germes considérés comme pathogènes pour l'homme , sont souvent exigeants quant à leur température de développement.

On aurait donc pu prévoir que les bactéries isolées allaient appartenir à des espèces différentes de celles à l'origine des affections humaines et que leur seul caractère commun serait d'être des bactéries cryophiles.

C'est ce que la recherche systématique a bien mis en évidence.

De multiples techniques ont été utilisées pour isolèr les souillures des sangs conservés, le choix de ces différentes méthodes dépend le plus souvent du but poursuivi par leurs auteurs.

Elles diffèrent tant par les milieux utilisés, que par les conditions d'incubation.

Nous ne détaillerons pas toutes ces techniques et ne citerons que celle de Bonnel et Raby (8), publiée récemment, qui semble la plus complète et la plus apte à mettre en évidance, la totalité des souillures pouvant être présentes dans les différents produits sanguins.

Personnellement, et ne travaillant que sur du sang conservé ou du plasma congelé, nous avons utilisé une technique plus simple, ceci pour trois raisons.

Notre but était de rechercher les germes ayant pu se multiplier plus ou moins dans les sangs et les plasmas.

Nous éliminions d'emblée la recherche des moisissures et des champignons, sans intérêt pour notre travail et en pratique transfusionnelle courante.

D'autre part, les anaérobies ne nous ont pas paru pouvoir se multiplier dans les conditions de conservation des sangs, tout au moins de façons appréciable.

Le seul milieu que nous avons utilisé était le bouillon ordinaire (I.P.), les cultures étant faites à 4° - I6° et 37°.

Cette notion de températures différentes de développement étant primordiale. La mise à I6° étant absolument indispensable si l'on ne veut pas risquer de perdre la presque totalité des souches, et d'ignorer ainsi pratiquement toutes les souillures des sangs.

CARACTERES DE CULTURE DE 32 SOUCHES ISOLEES DE SANGS CONSERVES

Identification	N	Acc	det.	Culture à 4°	Culture à I6°	Culture à 37°	Culture à I6° après 37°	Observations
PSEUDOMONACEAE :	I7	2	I5					
G. Pseudomonas								
a). Ps. aeruginosa	I	I		+	+ +	+	+	
b). Ps. fluorescens	3	-	3	+	+ +	0	0	
c). n.d.	8	-	8	+	+ +	0	0	
G. Achromobacter	5	1	4	+	+ +	0	0 /	/sauf I
ENTEROBACTERIACEAE :	I5	2	I3					
G. Proteus								
a). P. vulgaris	I	I	-	+	+ +	+	+	
b). n.d.	2	-	2	+	+ +	0	+	
G. Aerobacter	4	I	3	+	+ +	0	0	
G. Alcaligenes	4	-	4	+	+ +	0	0 /	/ sauf 1
G..n.d.	4	-	4	+	+ +	0	0 /	/ sauf 1

n.d. : non déterminé avec précision

Nous avons isolé à partir de plus de 3.000 flacons contrôlés (tant de sang que de plasma), 32 souches dont les caractères sont développés dans le tableau ci-joint (page I6).

Ces 32 souches présentent toutes un caractère commun: c'est leur développement très facile à I6° et 4°, toujours nettement plus rapide à I6° cependant, et seules deux des souches se sont multipliées à 37°.

Cette température de 37°, maintenue pendant trois jours sur un bouillon largement inoculé par les autres souches, n'a pas permis à 24 de nos souches de reprendre secondairement leur croissance lorsqu'elles ont été replacées à une température favorable.

Nous décrivons ces caractères , dans le tableau précédemment indiqué.

Nous ne prétendons pas avoir ainsi épuisé toutes les espèces susceptibles d'être retrouvées; l'éventail est certainement très large.

Une seule constatation : le nombre de bactéries Gram négatif mobiles et surtout l'important pourcentage des pseudomonaseae : plus de 50%.

L'étude des statistiques publiées par différents auteurs , permet de retrouver des résultats comparables quant aux grands types de germes et leur fréquence.

Mais si l'on ne considère que les germes isolés responsables d'accidents, que ce soit le cas de Borden et Hall (I95I), (I3), ceux de Braude, James.... comme les quatre de nos observations (2), il n'est pas possible de retrouver une espèce ni même une famille bien déterminée et le fait que ces germes soient tous des Bacilles Gram négatif mobiles, est un bien maigre caractère commun.

Cependant l'hypothèse a été émise que certains germes (staphylo-diphtérimorphes), n'occasionneraient que des réactions minimes.

Toutes les statistiques que nous avons pu lire et étudier, montre la rareté relative de ces contaminants. Cette proportion rend très bien compte de la rareté de l'isolement de ces germes dans les flacons ayant provoqué des accidents graves; et à notre avis, sauf peut-être le cas de certains germes très protéolytiques, tels les pyocyaniques (Braude et ses collaborateurs, I952) (11) , la notion d'espèce ne joue pas dans le déterminisme des accidents et leur gravité.

En conclusion à ce chapitre :

Nous pouvons résumer ainsi nos connaissances sur les germes à l'origine des accidents transfusionnels :

- Dans l'état actuel des méthodes de conservation des sangs, ces germes sont pratiquement tous des aérobies cryophiles, ce qui doit conditionner les techniques de détection.

Ces germes n'appartiennent pas le plus souvent à des espèces pathogènes pour l'homme, sinon à quelques rares exceptions près.

Il semble n'y avoir aucun parallélisme entre l'espèce en cause, et la gravité des accidents provoqués.

Quel est donc ce facteur déterminant l'importance plus ou moins grande des manifestations ?

C'est ce que nous allons tenter de mettre en évidence.

CHAPITRE III

PATHOGENIE DES ACCIDENTS

De la notion des bactériémies à celle d'accident immunologique, les théories évoquées sont nombreuses. Elles seront reprises pour les confrontter, avec les résultats expérimentaux.

Mais, déjà, nous retenons que certaines ont été émises sans preuves expérimentales; que d'autres se basent sur des constatations se rapportant plus à des sangs que nous qualifierons de "pourris", telles la coagulation partielle, l'hémolyse importante, qu'à des sangs souillés mais ayant conservé un aspect normal : c'est-à-dire les seuls qui risquent d'être injectés car l'aspect des premiers est suffisant pour les faire éliminer à un simple examen macroscopique rapide.

L'expérimentation a été faite sur le lapin, qui a été choisi pour sa susceptibilité bien connue aux "pyrogènes" et aux toxines. Les animaux étaient jeunes, par lot homogène, provenant du même élevage et pesant environ I.800 grammes.

Au début de nos séries d'expériances nous avons utilisé comme matériel d'injection, soit le sang de lapin isogroupe prélevé par ponction. intracardiaque, et rendu incoagulable par le citrate de soude, soit les dérivés de celui-ci (plasma, globules....)

Puis ayant constaté la parfaite tolérance du plasma humain aux doses injectées, nous avons utilisé celui-ci, ou ses dérivés; la dose injectée à chaque animal était identique : 2 cm3 en intraveineux (par la veine marginale de l'oreille).

Les souches, ayant servi à souiller les différents produits, étaient constituées par :

- Pseudomonas isolé d'un accident mortel, (observation clinique n° 3)
- deux autres souches de pseudomonas , un aérobacter, un paracoli (provenant de plasmas contrôlés).

Tous étaient des cryophiles.

Les produits sanguins ont été inoculés par une culture jeune, et conservés un temps variable à 4° (temps suffisant pour obtenir la densité microbienne désirée). La richesse en germes étant appréciée par numération avant les injections.

Une première série d'expériences utilisant soit le sang, soit le plasma (animal ou humain) a été conduite avec les différentes souches. Seules différaient les richesses en éléments microbiens, et nous avons ainsi pu classer nettement ces expériences en deux chapitres, la distinction portant uniquement sur la notion de densité microbienne.

A ' - Injection d'un sang isogroupe, ou d'un plasma animal, ou d'un plasma humain, très riche en germes, environ 30 (ou plus) par champ à l'immersion..

Aucune différence n'a pu être appréciée quel que soit le produit injecté. Chaque injection a été suivie de phénomènes absolument identiques (à une seule exception près).

Et voici les signes que nous avons pu observer :

- très rapidement, 30 secondes à 1 minute après l'injection, l'animal s'agite, frissonne, présente une dyspnée importante; puis, l'état général s'altère et des phénomènes paralytiques, véritable syndrome ascendant, apparaissent, gagnant le train postérieur puis la paroi abdominale, le train antérieur, la nuque et les muscles respiratoires.

La mort survenant en I5 minutes environ, vraisemblablement par asphyxie.

La seule exception sur toute cette série d'expériences, a consisté en l'existence d'un syndrome paralytique incomplet qui a rétrocédé secondairement.

Rien dans ce cas, sinon une résistance particulière de l'animal, n'a pu nous expliquer ce fait.

B - Injection dans les mêmes conditions exactement de milieu, de souche, de volume; la seule véritable étant la densité bactérienne, 8 à I0 germes maximum à l'examen (à l'immersion).

Dans ce cas, nous n'avons jamais de mort ni précocément, ni même tardivement, et les manifestations suivantes ont été constatées :

I à 2 minutes après l'injection, l'animal frissonne, il est inquiet, s'agite, se met "en boule", poil hérissé. La respiration est rapide et superficielle, l'élévation thermique reste modérée.

Puis tout va rentrer progressivement dans l'ordre en 20 à 30 minutes et l'animal ne semblera pas conserver trace de ces manifestations.

- Notre groupement des expériences pourrait paraitre artificiel, mais malgré les multiples variantes utilisées, une seule a conditionné des tableaux cliniques différents, c'est l'inégale importance des densités microbiennes.

Rien n'a différencié les résultats obtenus avec le sang, le plasma animal et même le plasma humain.

Les différentes souches se sont comportées de façon identique.

Nous avons admis que ce qui importait dans la gravité des accidents provoqués, était la densité microbienne, un certain parallélisme existant entre ces deux notions.

- Mais quelle était la cause proprement dite de ces accidents : toxines secrétées, produits de dégradation des protéines plasmatiques, germe lui-même.

La similitude des constatations faites avec le sang total et le plasma, permettent d'éliminer avec certitude, comme étiologie des troubles, les modifications des globules rouges, qu'elles soient physiques ou immunologiques; et pour le moins de ne leur attribuer qu'un rôle tout à fait secondaire. C'est ce que nous avait déjà fait soupçonner la clinique.

Nous avons donc repris une série d'expériences, en nous efforçant de n'utiliser que chacune des fractions pouvant être incriminées.

A - Rôle éventuel des substances secrétées par le germe :

Des plasmas humains et animaux, riches en germes, susceptibles de provoquer la mort de l'animal d'expérience, ont été privés de leurs éléments microbiens par deux méthodes différentes :

- soit la centrifugation prolongée à vitesse élevée,
- soit la coagulation par le chlorure de calcium.

La coagulation, ainsi qu'il l'a été bien démontré et utilisé pour les hémocultures, entraîne en effet dans le caillot la presque totalité des germes, les sérums surnageant étant très pauvres en éléments microbiens.

Ceci a été vérifié, non seulement par numération sur lame, mais aussi par ensemencement en boîte de Pétri.

Le plasma, ou le sérum très appauvris en germes, injectés à l'animal dans les conditions standard définies ci-dessus, n'ont jamais provoqué

que des réactions légères à type frisson, poussée thermique transitoire.

B - Rôle des protéines plasmatiques éventuellement "modifiées" par le métabolisme microbien.

Nous avons isolé les protéines plasmatiques de plasmas très pollués en les précipitant selon la méthode de Delsal par le mélange méthanol-méthylal.

Ces protéines isolées ont été remises en solution et réinjectées à dose très importante à l'animal.

Seules des réactions mineures ont été constatées, il n'y a jamais eu en particulier ni phénomènes paralytiques, ni mort.

C - Rôle du germe lui-même.

Reprenant les caillots riches en germes, nous les lysons par la streptokinase et obtenons ainsi de grandes quantités de germes qui sont lavés, puis injectés à dose massive (I00 à I50 éléments par champ), toujours sous le même volume de 2 cm3.

La mort est la règle, avec les signes paralytiques déjà décrits.

De même lorsque prenant soit un sang, soit un plasma dont l'injection n'entraînait pas la mort, nous l'enrichissons par simple centrifugation, - le culot ramené sous 2 cm3 étant 5 à 7 fois plus riche en germes- , nous constatons que son injection va amener régulièrement la mort de l'animal.

Ainsi donc, il semble bien établi par cette série d'expériences que:

1 - C'est la densité microbienne qui conditionne la gravité des phénomènes,

2 - C'est le germe lui-même qui est nocif et non pas les modifications du milieu où il s'est développé.

Quel est le mécanisme exact par lequel agit ce germe ?

Ce que nous avons constaté serait en faveur d'une action directe sur le système nerveux central, véritable inhibition.

Nous ne pouvons cependant négliger l'hypothèse et les vérifications expérimentales de Clauberg (I4), qui mettent en évidence des phénomènes immunologiques entre le germe antigène et les anticorps présents dans l'organisme du fait d'une sensibilisation préalable, vis à vis des germes intestinaux.

Vérifications anatomiques

Il a été procédé d'autre part à des contrôles anatomiques :

1 - chez l'animal mort après des phénomènes paralytiques en un temps très bref après l'injection; aucune lésion n'est décelable macroscopiquement.

2 - chez l'animal yant survécu à une injection de germes vivants.

Après 8 et même I5 jours, il n'a jamais été constaté aucune lésion viscérale, ni abcès, nç suppuration. (Notons aussi que l'un des animaux ayant reçu de ces mêmes germes, survit et se développe très normalement).

Cette deuxième constatation nous semble particulièrement importante, car elle nous montre que, malgré l'injection de germes vivants (°°), ceux-ci ne peuvent pas provoquer de phénomènes septicémiques, ni septicopyoémiques, ni a fortiori d'essaimage viscéral avec lésions suppurées métastatiques.

Ceci est très important quant aux conséquences thérapeutiques des accidents mineurs où l' avenir de l'inoculat microbien peut être négligé.

(°°) - Rappelons malgré tout que les expériences ont été pratiquées avec des souches cryophiles; mais elles correspondent bien aux germes existant dans les sangs conservés, puisque c'est là que nous les avons isolés.

CHAPITRE IV

PROPHYLAXIE

A - Cas du sang total

Nous n'insisterons pas sur les méthodes classiques de préparation du matériel de prélèvement anticoagulant, ni sur la nécessité absolue de ne jamais prélever dans un flacon, pour quelque raison que ce soit, sinon immédiatement avant son emploi.

Ces principes étant établis, que pouvons-nous proposer pour améliorer les conditions actuelles ?

Nous insisterons d'abord sur l'asepsie de la peau du donneur, et conseillons l'utilisation des ammoniums quaternaires puis de l'alcool (en sachant cependant qu'il ne sera jamais possible d'obtenir une aseptie parfaite).

Une précaution classique est le nettoyage à l'alcool des bouchons, avant et après prélèvement. Ceci hélas est une fausse sécurité car la stérilité obtenue est illusoire et nous conseillons à ce sujet le flambage de celui-ci à l'aide d'un Bunsen, d'une part immédiatement avant l'introduction des aiguilles et aussi secondairement après le prélèvement, ce flambage devant être suivi de la couverture par le latex liquide des orifices ayant été créés dans ce bouchon. A ces conditions seulement sera évité l'existence des micro-cultures dans les orifices créés et souillés de sang, comme nous l'avons montré dans la première partie de ce travail.

Allons-nous placer, comme il est classique de le conseiller , ce sang à la glacière à 4° dès après son prélèvement ?

Il a été dit plus haut ce que l'on pouvait espérer quant à l'action bactériostatique du sang.

Mais pourquoi les éléments blancs, présents dans le flacon, ne seraient-ils pas capables, dans une certaine mesure et pendant un temps limité, de conserver leur pouvoir phagocytaire et d'éliminer ainsi certains contaminants primaires.

Or la température de 4° va certainement bloquer rapidement ces possibilités.

Il apparait que le maintient de nos flacons à la température ambiante, pendant quelques heures, après le prélèvement, serait favorable à la phagocytose.

Cette conservation pendant 5 à 6 heures à I6° - 20°, n'influençant nullement la conservation ultérieure des globules rouges, nous l'avons appliquée.

Ayant observé uniquement les mesures ci-dessus décrites, (en plus de celles classiques et universellement adoptées) nous avons eu la satisfaction de voir diminuer de 2,5 à moins de I% le nombre des flacons où la culture mettait en évidence des contaminants.

Ceci réalisait donc bien une amélioration des conditions de conservation, mais il faut hélas constater que nous étions loins d'une sécurité parfaite et qu'un accident grave restait toujours possible.

L'addition au sang de corps antibiotiques était tentante. L'idée n'est pas nouvelle et Braude en I955 (I0) a publié les résultats obtenus par l'addition de différents antibiotiques : oxytétracycline, polymyxine B, chlortétracycline.

L'opinion favorable de cet auteur n'a pas hélas été confirmée dans nos expériences; peut être parce que les souches utilisées étaient

constituées surtout par des pseudomonaceae, particulièrement résistantes à l'action de ces antibiotiques, et des antibiotiques en général.

Le risque de sensibilisation des malades par ces corps, n'étant pas équilibré par une garantie suffisante d'efficacité, nous a fait rejeter ces méthodes.

C'est de même la crainte de sensibilisation éventuelle, et la relative toxicité des corps employés (mercurobonate) qui a conduit à éliminer l'usage d'antiseptiques comme il est en honneur aux U.S.A.

Il faut donc admettre qu'il n'est pas possible , dans l'état actuel de nos techniques, d'éviter la contamination et la prolifération des germes dans un certain pourcentage de flacons et, si nous avons diminué au maximum cette possibilité, nous ne l'avons pas jusqu'ici exclue.

La meilleure prophylaxie va donc résider dans la détection facile et rapide des germes.

Elle est réalisée par deux méthodes :

1 - l'examen extemporané d'une goutte de sang prélevé dans le flacon, chaque fois que celui-ci aura été collecté depuis plus de 48 heures.

Deux critiques sont à faire à cet usage :

a - il nécessite un prélèvement dans le flacon et obligera à l'utilisation rapide sinon immédiate de celui-ci.

b - si la densité bactérienne est faible, il est souvent difficile d'affirmer cette souillure, certains éléments du sang réalisant des images trompeuses (les plaquettes par exemple).

Malgré tout, cet examen permet l'élimination des pollutions importantes dont nous avons montré la gravité et nous pensons qu'il doit être systématiquement pratiqué.

2 - La deuxième méthode repose sur des principes très différents :

Il est inutile de rappeler les travaux qui ont montré les modifications du rH des milieux de culture, au cours de la croissance bactérienne.

Or, ce qui importe en pratique dans les sangs conservés, c'est la mise en évidence de la multiplication des germes.

Il était tentant de transposer cette notion de modifications du rH, au milieu de culture réalisé dans ces conditions par le sang conservé.

Mais le sang, milieu riche en systèmes tampons, présentait-il le même phénomène, et dans quelles limites ?

D'autres conditions étaient cependant nécessaires et en premier lieu la possibilité d'introduire dans le sang un indicateur de rH pouvant être utilisé sans inconvénients pour les receveurs, ce qui a conduit d'emblée à travailler avec, comme indicateur, le bleu de méthylène, corps qui s'est révélé ensuite être le meilleur indicateur utilisable (..).

L'expérimentation a été conduite sur des sangs prélevés dans des conditions standard sur le mélange A.C.D. (.. ..) classiquement utilisé

(..) - Notons qu'au pH 7, voisin de celui du sang conservé, le potentiel normal du bleu de méthylène est de + 0,011 volts correspondant à un rH de 14.

(.. ..)- Formule du mélange A.C.D. :

(acide citrique - citrate - dextrose)

- Acide citrique ..... 5,6 g
- Citrate de Soude (trisodique) .....18,7 g
- Glucose ..... 30 g.
- Eau distillée apyrogène, q.s.p..... 1.000 ml

ce mélange étant additionné de bleu de méthylène dans la proportion de IO mg de bleu de méthylène pour I.000 cm3 d'A.C.D. (ce qui entraîne un taux de I mg de bleu de méthylène pour un flacon de 500 cm3 (sang 400 cm3 + mélange anticoagulant IOO cm3).

Les sangs ont été contaminés artificiellement par les souches mises à notre disposition, provenant de sangs et de plasmas, les inoculats étant extrêmement faibles.

Les sangs ont été placés ensuite à + 4°.

Dans ces conditions, et avec une constance absolue au cours de l'expérimentation, nous avons assisté aux mêmes phénomènes, en rapport avec les modifications du Redox.

- La sédimentation des globules laisse au-dessus de ceux-ci un plasma nettement teinté en bleu-vert, la totalité de la masse plasmatique étant entièrement colorée après 24 à 36 heures maximum.

Puis l'on assiste, à mesure que vase développer la culture, à une décoloration du plasma débutant en profondeur et gagnant plus ou moins vite la surface.

Chaque fois qu'il y a eu multiplication des germes inoculés, cette décoloration s'est produite de façon extrêmement précoce et sans aucune erreur possible.

Les témoins non inoculés ont conservé pendant au moins IO à I2 jours, la coloration bleu-vert de leur plasma, et ceci aussi constamment.

Lorsque dans un plasma contaminé et décoloré, comme il est décrit précédemment, les globules sont remis en suspension, leur sédimentation va laisser réapparaître un plasma décoloré

Cette méthode comporte certaines causes d'erreurs que l'expérimentation nous a permis de mettre en évidence, mais elles sont toutes par

excès, c'est-à-dire que nous assistons parfois à la décoloration du plasma sans qu'il soit possible de mettre en évidence un germe, même par des cultures répétées.

C'est le cas généralement du sang très longtemps conservé, à la limite d'utilisation, ou lorsque les flacons sont très pleins.

Ceci correspond sans doute à la consommation d'oxygène par les globules rouges, qui a amené la baisse du potentiel d'oxydo réduction comme la réalisent les bactéries.

Une autre cause d'erreur possible est occasionnée par les plasmas très hyperlipémiques. Mais nous savons que ces plasmas, ou que les donneurs présentant ces plasmas, doivent être éliminés. Un reproche qui peut aussi être fait, c'est le défaut de sensibilité, il est indubitable que ce ne sont pas quelques éléments apparus au début de la multiplication, qui amèneront le virage bleu $\longrightarrow$ leuco, mais la zone de rH optimum est voisine de celle réalisée par le sang et des proliférations minimes, inférieures nettement à celles nécessaires pour provoquer des chocs graves, vont entrainer la réponse du réactif.

On n'élimine pas ainsi tous les risques inhérents à la prolifération bactérienne. Les manifestations minimes peuvent encore exister, mais la prolifération importante, celle justement responsable des manifestations les plus graves, voir mortelles, pourra être facilement détectée et c'est là une protection non négligeable.

Nous ne pensons pas que ces quelques défauts puissent être un objectif valable à l'utilisation de la méthode.

Une autre question qui peut être posée, est celle de savoir si les quantités de bleu de méthylène utilisées sont compatibles avec l'injection, même massive, de plusieurs litres de sang.

Nous l'affirmons, car si nous comparons les doses utilisables par voies intra-veineuse, telles que l'on peut les relever dans les ouvrages récents de thérapeutique (I5), ceux-ci nous donnent :

5 à I0 mg par kilogramme de poids;
or, la quantité présente dans chaque flacon de 500 cm3 n'est que de 1 mg.

La marge de sécurité apparait donc énorme.

Le bleu de méthylène utilisé à ce taux, ne provoque pas non plus de formation de méthémoglobine dans le flacon.

Y-a-t'il quelque autre objection à l'usage de ce produit ?

- Médicalement nous avons montré qu'il n'y en avait aucune.
- Certains utilisateurs ont été parfois assez étonné de l'aspect des plasmas ainsi préparés, mais c'est là un moindre mal.

Devant l'innocuité certaine du produit utilisé, et les intéressants résultats expérimentaux obtenus par cette méthode, l'application pratique en a été décidée.

Le mélange anticoagulant A.C.D. est additionné au moment de sa préparation et avant sa distribution et sa stérilisation, d'une quantité de bleu de méthylène égale à I0 mg par litre.

L'aspect macroscopique du plasma est vérifié avant la distribution des flacons et tout plasma présentant une décoloration anormale, soit partielle (zone profonde), soit totale, est éliminé; tout au moins jusqu'au contrôle bactériologique.

Cette méthode est utilisée depuis plusieurs mois et a été appliquée à près de 2.000 flacons.

Elle nous a permis de détecter facilement quelques flacons souillés (six) , et depuis son utilisation nous avons relevé aucun accident grave

uniquement quelques manifestations mineures, mais dont la fréquence est très inférieure à celle antérieurement constatée , et correspond peut-être au nombre de ces manifestations mineures que nous admettons être dues à une autre étiologie que la pollution des sangs conservés.

La seule constatation apportée chez les malades ayant reçu plusieurs flacons, est l'élimination d'urines colorées, dont il faut signaler la possibilité au personnel soignant.

Ainsi l'utilisation du bleu de méthylène, dans les conditions où nous les avons précisées ci-dessus , nous semble être actuellement la méthode la plus sûre, la plus fidèle et aussi la plus rapide pour détecter les flacons de sangs dans lesquels des germes se sont multipliés.

Elle présente aussi cet énorme avantage, à notre avis , d'être macroscopique et de ne nécessiter aucune manipulation supplémentaire (autre que l'adjonction du bleu de méthylène à l'A.C.D.).

B)- Cas du plasma congelé

Ici les difficultés s'effacent, le temps ne joue pas et la seule méthode utilisable est la culture pratiquée immédiatement avant la congélation, dans les conditions précédemment décrites, c'est-à-dire : bouillon nutritif ordinaire, mais avec l'obligation de porter les ensemencements à + I6° et + 37°.

La température la plus favorable étant celle de I6°, (c'est elle qui nous a donné le plus régulièrement des résultats).

CHAPITRE V

THERAPEUTIQUE

Elle sera très différente selon que l'on est en présence d'accidents très graves ou de manifestations mineures.

- Accidents graves

Il faut savoir que la thérapeutique est ici bien inopérante.

Elle sera avant tout symptomatique :

- vasoconstricteurs, type noradrénaline,
- tonicardiaques majeurs, (ouabaïne)
- oxygénothérapie,

perfusion massive (si elle est possible).

D'autres méthodes vont tenter d'agir sur le mécanisme supposé :

- ganglioplégiques, type chlorpromazine,
- antihistaminiques.

La perfusion de corticoïdes ou leur injection intra-veineuse peut-être envisagée.

A noter que seule la voie intra-veineuse est à utiliser pour toutes ces thérapeutiques, car les troubles hémodynamiques rendront inopérante toute autre voie.

- Accidents mineurs

Là tout se bornera :

1 - à une certaine psychothérapie,

2 - à une thérapeutique symptomatique.

D'abord rassurer le patient, le réchauffer, le calmer s'il y a lieu, puis selon les besoins :

- vaso-presseurs,
- tonicardiaques

On y associera systématiquement les antihistaminiques, type phénergan.

Le problème du traitement ultérieur par les antibiotiques :

A notre avis il est inutile, car les germes injectés ne rencontrent pas, in vivo, des conditions favorables à leur développement, et les constatations expérimentales sur l'animal nous ont bien montré l'absence constante de localisations microbiannes secondaires.

Ces germes, rappelons-le encore une fois n'appartiennent pratiquement jamais à des espèces pathogènes.

CONCLUSIONS

La confrontation des observations cliniques recueillies depuis plusieurs années, près des malades ayant présenté des manifestations anormales à la suite de transfusions; l'étude bactériologique des sangs conservés et des plasmas avant congélation, pratiquée systématiquement depuis plus d'un an dans un Centre de Transfusion Sanguine; l'expérimentation sur l'animal avec des produits sanguins volontairement contaminés, réalisée afin de contrôler et appuyer les hypothèses que les précédentes observations avaient conduit à émettre; ont été comparées avec les notions actuellement connues sur la fréquence, la clinique, l'étiologie, la pathogénie et la thérapeutique des accidents dus à la contamination des sangs conservés.

Ces travaux nous ont permis de mettre en évidence les points suivants :

La fréquence des accidents transfusionnels, dus à la contamination des sangs conservés, est beaucoup plus importante que celle qui est le plus souvent évoquée.

Il existe d'une part des accidents gravissimes presque constamment et très rapidement mortels; ils sont relativement rares mais cependant peut-être moins que les cas publiés actuellement peuvent le faire supposer.

D'où la règle : devant tout accident par transfusionnel de rechercher une étiologie bactérienne par l'examen direct du sang et la culture, qui doi-

vent être aussi systématiques que l'étude des compatibilités des différents types sanguins.

Cette étude doit permettre de rattacher à leur cause exacte des manifestations encore très diversement expliquées.

Mais à côté de ces accidents toute une série de manifestations mineures doivent être rattachées en premier lieu à la même étiologie.

Cette hypothèse émise au départ sur de simples constatations statistiques, se trouve en grande partie confirmée par la confrontation de la clinique, l'étude bactériologique et l'expérimentation animale.

L'obligation, ou la nécessité de conserver ces sangs à + 4° va conditionner la température dans laquelle les germes devront se multiplier et opérera parmi les contaminants éventuels, une sélection.

Ainsi, la presque totalité des souches retrouvées, tant au cours d'accidents de tous types que de détections systématiques, n'appartiendront pas à des espèces pathogènes (les exceptions sont extrêmement rares), et seront toutes cryophiles, plus ou moins strictes.

L'expérimentation met bien en évidence que toutes les espèces microbiennes peuvent réaliser des accidents, le seul élément conditionnant la gravité de ceux-ci étant la densité microbienne, sans que puisse être retrouvée soit une modification du sang, soient des produits secrétés par le germe; elle démontre aussi que ces germes ne sont pas capables de provoquer des manifestations septicémiques ou septicopyohémiques, dans l'organisme qui les reçoit.

Quelque soit le soin apporté au prélèvement et à la conservation, il persiste un certain nombre de causes de souillures inévitables, car tenant au donneur en particulier.

La véritable prophylaxie et la plus complète réside donc dans la détection des multiplications microbiennes qui se seront produites durant la conservation.

L'examen microscopique extemporané est un gros appoint à cette détection, mais la mise en évidence des modifications du rH du sang au cours de ces multiplications, réalisée par l'addition de bleu de méthylène au mélange anticoagulant, semble actuellement un moyen sûr, fidèle, rapide et sans danger, permettant l'élimination facile des flacons suspects au simple examen macroscopique.

C'est cette méthode, dont l'application est très facile et les résultats très intéressants, qui semble pouvoir être appliquée systématiquement.

Vu, le Président de Thèse :

Pr. R. FASQUELLE

Vu, le Doyen de la Faculté :

Pr. L. BINET

Vu et permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris

J. SARRAILH

BIBLIOGRAPHIE

1 - R. ANDRE, B. DREYFUS, Ch. SALMON,
Incidents et accidents de la transfusion sanguine.
Masson et Cie, 1956, p. 59, 60, 73, 74.

2 - BOY J. & Coll. Transfusion, 1959, I, 4, p. 318

3 - BERNARD J. in Maladies du sang
Flammarion, p. 997

4 - BESSON A., DESBORDES J., ROSENESTOCK O., PELLETIER J., & GUYOTJEANNIN Ch.
Ann. Inst. Pasteur, 1955, 89, 514

5 - BONNEL P.H., Ann. Inst. Pasteur, 1950, 79, 422.

6 - BONNEL P.H., Ann. Biol.. Clin. , 1951, 9, 410.

7 - BONNEL P.H. & RABY Cl.,
Rapport à la 3° Rencontre Internationale de Standardisation Biologique, Opatija, Yougoslavie 2-6 sept. 1957, Comptes rendus, 1958, p. 327.

8 - BONNEL P.H. et RABY
Transfusion 1958, I, n° I, 55 et suivants

- BONNEL P.H. et RABY
7° Congrès de la Société Internationale de transfusion sanguine 1958, rapport 53.

I0 - BRAUDE A., CAREY F.J. & SIEMENSKY J.,
J. Clin. Invest., I955, 34, 3II

II - BRAUDE A., SANDFORD J.P., BARTLETT J.E. & MALLERY O.T.,
J. Lab. Clin. Med. , I952, 39, 902.

I2 - BRAUDE A.I. New Engl. Jour. of Med. I958, June .

I3 - BRODEN C.W. & HALL W.H.
New-Engl. Jour. of Med. , I95I, T. 245, pp. 760-765

I4 - CLAUBERG K.W. 7° Congrès S.I.T.S., Rapport I76.

I5 - J. COTTET, C. LAROCHE, A. VARAY
Thérapeutique Médicale, p. 407.

I6 - GEIGER J., KATZIN E.,
7° Congrès S.I.T.S., I958, Rapport 85.

I7 - GELLER P., CHANDLER L..& JAWETZ E.,
J. Lab. Clin. Med. I954, 49, 573

I8 - GELLER P. & JAWETZ E.,
J..Lab. Clin. Med. I954, 43, 696

I9 - JAMES J.D. , 6° Congrès de la Société Européenne d'hématologie,
Copenhague

20 - KELLY C.D. et LAYNE S.,
Canad. J. Microbio. , I957, I64, I, 5I8

2I - KOLMER J.A. Amer. J. Med. Sci. , I939, I97, 442

22 - LANG C.A., CHERKIN A.,
7° Cong. S.I.T.S. I958, Rapport 98.

23 - LEWIS S. Cours du C.N.T.S., chapitre XXX.

24 - MASSE L., BENTEGEAT J., MASSE C., FALLOT E., LARTIGUE H.,
7° Cong. S.I.T.S., I958, Rapport II4

25 - MATTHES M., ORTH. G.W., KOHLER A.,
7° Cong. S.I.T.S., Rapport I77

26 - MENINI C., BATTAINI O., CAMPANA F.,
7° Congrès S.I.T.S., Rapport 200.

27 - MONOD R. & MASSE L.
La transfusion sanguine; rapport présenté au 59° congrès de l'association Française de Chirurgie, Paris, I957, I67.

28 - MORTON H.E., Science, I957, I26, I, 248

29 - O.M.S., Pharmacopea Internationalis , Genève, I95I, Vol. I, p. 374.

30 - Pharmacopea of the U.S.A. XV révision, I955, p. 84I.

3I - PINKERTON F.J., MERMOD L.E.
7° Cong. S.I..T.S. Rapport I82.

32 - PITTMAN M., J. Labo. Clin. Med. I953, 42, 273.

33 - STEVENS A.R. et al.
Ann. Int. Med. 39. I228-I239-2953

34 - SWIERCZYNSKA Z., SCHWEIZ Z.,
Alg. Path. Bakt., I957, 20, 2II

35 - WALLACE J. 7° Cong. S.I.T.S., Rapport I84.

36 - WALTER C.W., KUNSDIN R.B. et BUTTON L.N.
New Engl. J. Med. , I957, 257, 364.

37 - WALTER C.W., KUNSDIN R.B. et BUTTON L.N.
7° Cong. S.I.T.S., I958, Rapport IOI.

38 - WETTERLOW L.H. , KAY H.H. & EDSALL G.
J. Lab. Clin. Med. I954, 43, 4II

AGEMP
POLYCOPIE
8, rue Dante
PARIS-Ve
Téléphone : ODÉon 58-90